نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۱۹-۳۰۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 303-319
ISSN: 2008 - 4730

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانهال‌های پسته گونه اهلی در تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه اینتگریما به منظور دسترسی به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی

حسن فرهادی[۱]- محمد مهدی شریفانی[۲*]- مهدی علیزاده[۳]- حسین حکم آبادی[۴]- ساسان علی نیائی فرد[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰

چکیده

پسته یکی از مهمترین محصولات باغی ایران است که بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک کشت می‌شود. به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک دانهال‌های پسته و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال‌های ۹۸- ۱۳۹۷ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش شامل ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندقی و (دورگ‌های بین اینتگریما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ های احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندقی به عنوان والد مادری) و سه سطح خشکی شامل شاهد (ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند که ۸۴ روز روی دانهال‌های سه ماهه پسته اعمال شدند. نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر تعداد برگ، طول ساقه، طول ریشه، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پرولین برگ و ریشه داشت. با افزایش سطوح خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین در گیاهان مورد مطالعه نسبت به شاهد کاهش یافت. در بین دانهال‌ها، در اکثر صفات به ترتیب ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما کمتر و ژنوتیپ‌های فندقی و فندقی × اینتگریما بیشتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفتند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بتوان از دورگه‌های پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما به عنوان ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح ارقام در مناطق خشک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

مقدمه

ایران با قرار گرفتن بین عرض‌های جغرافیایی ۲۵ تا ۳۷ درجه از خط استوا در نیمکره شمالی قرار گرفته است و جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود (۲۴). طبق یافته‌های سازمان ملل متحد در آینده‌ای نه چندان دور ۳۱ کشور جهان با بحران خشکسالی مواجه خواهند شد به طوری‌که تا سال ۲۰۳۰ به دلیل تغییرات جوی، ۱/۲ میلیارد نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از ایران نیز به عنوان یکی از بحرانی‌ترین کشورهای درگیر کمبود آب در آینده نام برده شده است (۳). بنابراین با توجه به گسترش روزافزون کم آبی و نیز پایین رفتن سطح آب زیرزمینی و کمبود بارش به ویژه در مناطق اصلی پسته کاری ایران، لزوم توجه به مسئله کم آبی و خسارت‌های فیزیولوژیکی ناشی از آن بیش از پیش بارزتر و مهم‌تر به نظر می‌رسد. تنش خشکی یکی از عمده‌ترین مشکلات محدود کننده رشد و عملکرد گیاهی بوده و زمانی رخ می‌دهد که میزان تعرق بیشتر از میزان جذب آب باشد. در این شرایط، تنش خشکی کلیه فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصول و بالاخره در تداوم تنش مرگ گیاه را به دنبال دارد (۳۸).

کشاورزی ایران با محصول پسته (*Pistacia vera* L.) در جهان شناخته شده و این محصول، جزو مهمترین بخش صادرات غیر نفتی می‌باشد. متوسط صادرات سالانه پسته کشور بالغ بر ۱۰۰ هزار تن

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: Email: mmsharif2@gmail.com)
۴- استادیارمرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان
۵- استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.85707

گزارش شده است که درآمدی در حدود ۱۰۰ میلیارد دلار برای کشور به دنبال دارد (۲۷). به همین منظور تلاش برای بهبود وضعیت عملکرد می‌تواند از اهداف اولیه در صنعت تولید پسته کشور باشد؛ با توجه به مشکل کم آبی در ایران افزایش سطح زیر کشت به منظور افزایش تولید نمی‌تواند گزینه مناسبی باشد. سالانه تحقیقات زیادی به منظور بهبود عملکرد کمی و کیفی میوه پسته صورت می‌گیرد. یکی از گزینه‌های بهبود عملکرد کمی و کیفی محصول، انتخاب ژنوتیپ مناسب و سازگار با رقم، شرایط آب و هوایی و خاک منطقه است. انتخاب طبیعی در بین باغات قدیمی و سنتی، انجام گرده‌افشانی و تلاقی‌های کنترل شده و روش‌های به نژادی، زیست فناوری و اصلاح نوین از راه‌های اصلاح ارقام و ژنوتیپ است (۳۳). انتخاب ارقام مقاوم یکی از ساده‌ترین راه‌های ممکن و پیش رو می‌باشد که در همین راستا می‌توان بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مدنظر تلاقی‌هایی انجام داد. با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به عنوان یک محصول استراتژیک و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، تحقیقات به منظور یافتن ژنوتیپ‌های دورگه متحمل به خشکی ضروری می‌باشد. بنابراین به‌نژادی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی دارای اهمیت است. لازمه این فرآیند جستجو بین توده‌های طبیعی و گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم و استفاده از آنها در برنامه‌های به‌نژادی می‌باشد (۷).

در پژوهشی باقری (۱۰) روی دو رقم پسته بادامی و قزوینی با چهار سطح خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) نشان داد که در بین دو رقم، رقم بادامی ریز نسبت به رقم قزوینی از رشد بهتری در شرایط خشکی برخوردار بوده و ماده خشک بالاتری تولید نموده است. همچنین رقم بادامی ریز با توجه به تولید ماده خشک بیشتر، حفظ میزان کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ بالاتر نسبت به رقم قزوینی در شرایط تنش خشکی مقاوم‌تر است. در پژوهشی مشابه قاسمی (۱۴) اثر تنش خشکی را روی چهار رقم پسته مورد بررسی قرار داد و گزارش کرد که ارقام بادامی و بنه که به عنوان ارقام مقاوم به تنش خشکی شناخته شدند، دارای محتوی نسبی آب برگ بالاتری نسبت به ارقام حساس به خشکی قزوینی و سرخس می‌باشند. بر اساس یافته‌های تایز و زایگر (۳۵) گیاهانی که بتوانند در شرایط تنش میزان کلروفیل خود را در سطح بالایی حفظ کنند از کارایی فتوسنتزی بالاتری برخوردار خواهند بود و دلیل این مسئله این است که کلروفیل رنگیزه اصلی جذب کننده نور می‌باشد و حضور آن برای راه اندازی فرآیندهای فتوشیمیایی ضروری است. بن حامد و همکاران (۱۲) نیز در پژوهشی سطوح مختلف تنش خشکی را بر روی بذور ژنوتیپ‌های آتلانتیکا، ورا و دانهال‌های حاصل از بذور تلاقی بین‌گونه‌ای آتلانتیکا × ورا اعمال نمودند و مشاهده کردند که بذور دورگه میزان مقاومت بیشتری نسبت به بذور آتلانتیکا و ورا داشتند. بر اساس گزارشات آدن (۳۶) گونه اینتگریما از نظر شرایط آب و هوایی دامنه‌های خشک با خاک‌های کم عمق را ترجیح می‌دهد و از نظر تحمل به خشکی متوسط است. در پژوهشی که اخیراً توسط ماریانا و همکاران (۲۶) در اسپانیا انجام شد تأثیر تنش خشکی بر پیوندک دو ساله رقم کرمان روی سه پایه تربینتوس، آتلانتیکا و یو سی بی-۱[1] که حاصل تلاقی بین‌گونه‌ای اینتگریما (به عنوان والد پدری) و آتلانتیکا (به عنوان والد مادری) است مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ایشان نشان داد که بیشترین میزان رشد رویشی رقم کرمان در شرایط خشکی روی پایه یو سی بی-۱ بود. در پژوهشی دیگر گیجون و همکاران (۱۶) نشان دادند که گونه تربینتوس و دورگه حاصل از تلاقی آتلانتیکا × اهلی به طور چشم‌گیری حساسیت روزنه‌ای و قدرت زنده‌مانی در شرایط تنش خشکی را در پیوندک رقم کرمان بهبود بخشیدند و این در حالی بود که گونه آتلانتیکا با بیشترین کاهش سطح برگ، رشد و قدرت زنده مانی به عنوان حساس‌ترین پایه در این بین شناسایی گردید.

تحقیقات صورت گرفته تاکنون در راستای بررسی تنش خشکی دانهال‌ها و ژنوتیپ‌های پسته از طریق انتخاب بذور و یا گیاه مادری مستقیم بوده و تاکنون بین بذور حاصل از تلاقی‌های کنترل شده بوسیله دانه گرده گونه اینتگریما با گونه اهلی پژوهشی به منظور گزینش ژنوتیپ متحمل به خشکی همزمان با بهبود رشد رویشی صورت نگرفته است. به طور کلی تلاقی‌های هدفمند در جهت افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهی مطمئن و دائمی برای به حداقل رساندن اثرات زیان‌بار تنش خشکی بر گیاهان به شمار رود. گونه ورا (*Pistacia vera* L.) که عمده‌ترین پایه مورد استفاده در کشور است گونه‌ای کند رشد و دیر بازده می‌باشد. در عوض پسته گونه اینتگریما (*P. integerrima* S.) یکی از گونه‌های پر رشد، مقاوم به ورتیسیلیوم و بسیاری از خصوصیات خوب دیگر است.

بنابراین هدف از این پژوهش، مقایسه تحمل به خشکی ژنوتیپ های مختلف پسته حاصل از گرده‌افشانی آزاد با دانه گرده گونه‌های ورا و تلاقی‌های کنترل‌شده با استفاده از دانه گرده اینتگریما به منظور یافتن متحمل‌ترین ژنوتیپ نسبت به خشکی با بررسی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: گرده‌افشانی کنترل شده و تولید بذور دورگه

به منظور تولید بذور دورگه، تلاقی کنترل شده در مؤسسه تحقیقات پسته آستان قدس رضوی (شهرستان بردسکن- شهر انابد) واقع در ۲۹۷ کیلومتری شهر مشهد در سال باغی ۹۷- ۱۳۹۶ بر روی درختان ۱۴ ساله ارقام احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندقی انجام شد. درختان پسته مورد آزمایش در فضای باغ به

1- UCB-1

مختصات جغرافیایی طول ۵۷/۸۰، عرض ۳۵/۲۴ و ارتفاع ۸۷۵/۰۰ متر از سطح دریا قرار داشتند. هر تکرار یک درخت داشت و از هر درخت هفت شاخه که حداقل دارای سه تا چهار جوانه گل می‌باشد، انتخاب شد و چهار شاخه از آن‌ها برای گرده‌افشانی کنترل شده، دو شاخه جهت گرده افشانی آزاد و یک شاخه به منظور کنترل منفی در نظر گرفته شد (شکل ۱). قبل از باز شدن کامل خوشه‌های گل، روی شاخه‌ها با الکل ۷۰ درصد اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. به منظور اطمینان از گرده‌افشانی کنترل شده، در مرحله تورم جوانه، شاخه‌ها به‌وسیله کیسه‌های دو لایه ململ به ابعاد ۴۵×۳۰ سانتی‌متر ایزوله گردید. برای انتخاب والد نر اینتگریما در منطقه ارزوئیه استان کرمان از درخت شماره ۱ دانه گرده جمع‌آوری شد و تا زمان آماده بودن والدهای ماده، گرده‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از سرنگ ترکیب آرد گندم و گرده اینتگریما (نسبت ۱:۱ در هر مرحله) در چهار مرحله با غلظت‌های مختلف به داخل کیسه‌های عایق تزریق و عمل گرده افشانی صورت گرفت (جدول ۱). این اقدام برای هر خوشه چهار مرتبه تکرار گردید. در زمان بستن کیسه‌های عایق بندی، با توجه به رشد طولی جوانه انتهایی، حدوداً ۱۵سانتی‌متر از فضای انتهایی کیسه خالی در نظر گرفته شد. پس از گرده‌افشانی هنگامی که کلاله گل‌ها، قهوه‌ای رنگ شد و میوه‌ها به صورت دانه ارزنی رسیدند کیسه‌های ململ از روی شاخه‌ها برداشته و با کیسه‌های توری بزرگ تعویض شدند تا از میوه‌های تشکیل شده مراقبت‌های لازم در خصوص کنترل آفات و سایر موارد صورت پذیرد. در اواخر تابستان برداشت بذرهای دورگه انجام شد و پس از خشک نمودن، در داخل یخچال با دمای ۴ + درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

جدول ۱- تیمارهای آرد و گرده مورد استفاده در گرده‌افشانی کنترل شده درختان پسته

Table 1- Flour and pollen treatments used in controlled pollination of pistachio trees

مراحل گرده‌افشانی Pollination steps	تاریخ گرده‌افشانی Pollination date	میزان آرد و گرده اینتگریما Integerrima flour and pollen levels
مرحله اول First stage	۵ فروردین ماه 25 March	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریما (۰/۲۵گرم) 0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)
مرحله دوم Second stage	۷ فروردین ماه 27 March	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریما (۰/۳۷۵ گرم) 0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله سوم Third stage	۱۰ فروردین ماه 30 March	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریما (۰/۳۷۵ گرم) 0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله چهارم Fourth stage	۱۴ فروردین ماه 3 April	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریما (۰/۲۵گرم) 0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)



a b c

شکل ۱- نحوه عایق‌سازی (a)، کنترل منفی (b) و تعویض کیسه‌های ململ با کیسه‌های توری (c) در شاخه‌های پسته

Figure 1- Insulation (a), negative control (b) and replacement of jaconet bags to lace bags (c) in the pistachio branches.

مرحله دوم: آزمون مقاومت به خشکی دورگه‌های بدست آمده از مرحله اول

این پژوهش در سال باغی ۹۸- ۱۳۹۷ به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان روی ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه، فندقی و (دورگه‌های بین اینتگریما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ‌های احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندقی به عنوان والد مادری) انجام شد. بذور حاصل از گرده‌افشانی آزاد و کنترل شده در ۱۷ فروردین ۱۳۹۸ در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر کشت شدند. بذرها قبل از کاشت ۲۴ ساعت در

آب مقطر استریل خیس شدند و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و به مدت ۳۰ دقیقه با قارچکش کاپتان ۲ در هزار به منظور ضدعفونی خیسانده و سپس جهت زدودن بقایای مواد شوینده از آن‌ها با آب مقطر سه مرتبه شستشو داده شدند. در هر یک از واحدهای آزمایشی (گلدان‌ها) سه عدد بذر کاشته شد و پس از سبز شدن و اطمینان از استقرار، تعداد گیاهان داخل گلدان به سطح نهایی یک عدد در هر گلدان کاهش یافت. هر تکرار شامل چهار واحد آزمایشی یا چهار گلدان و هر گلدان شامل یک گیاه بود. دمای متوسط روزانه گلخانه ۳۷–۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای متوسط شبانه ۲۲–۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۲ ± ۴۵ درصد بود. بعد از ۳۵ روز از شروع کاشت به مدت ۶۵ روز، تغذیه دانهال‌ها هر ۱۲ روز یک بار با کود بیومین (446-sp) با غلظت ۲ گرم در لیتر و در مجموع ۶۰۰ گرم و استفاده از کود هیومکس ۹۵ (HUMAX 95- WSG) با غلظت ۷ گرم در لیتر و در مجموع ۲۱۰۰ گرم انجام شد. پس از رشد و مراقبت های لازم از گیاهان، سطوح خشکی برای مدت ۸۴ روز (از ۲۳ تیر تا ۱۵ مهر ۱۳۹۸) روی دانهال‌های ۱۰۰ روزه اعمال شد. اعمال تیمار خشکی به روش وزنی صورت گرفت. جهت شناسایی ترکیب خاک، در ابتدا آزمایشات مقدماتی با استفاده از محاسبات تعیین میزان آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه صورت پذیرفت. برای تعیین تیمارهای مقادیر آب در هر گلدان، ابتدا مقداری خاک درون آون قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت مجدد وزن شده و میزان آب در خاک مشخص گردید. سپس خاک خشک را در گلدان ریخته و به آرامی و تا حد اشباع، آب به آن اضافه شد و تا روز بعد رها گردید (۳۴). پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان توزین شد و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند. بر اساس محاسبات یاد شده، وزن هر گلدان برای هر سه تیمار ۱- شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۲- تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۳- تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) محاسبه گردید. طبق محاسبه‌های انجام شده با توجه به اینکه ظرفیت زراعی در نمونه خاک ۱۹ درصد محاسبه شد، معیار آبیاری هر گلدان، وزن روزانه آن‌ها در ساعت ۱۰ صبح بود و آب لازم برای رسیدن به هر سطح اضافه شد. همچنین در این آزمایش برای تعیین وزن گیاه از گلدان‌های بدون گیاه هم استفاده شد تا برابر وزن گیاه به گلدان‌ها آب اضافه شود تا وزن گیاه در ظرفیت‌های زراعی مدنظر اختلالی ایجاد نکند.

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

برای سنجش طول ریشه و ساقه، ابتدا گیاهان مورد بررسی از درون گلدان‌ها خارج و ریشه‌ها به خوبی شست و شو گردیدند. سپس این گیاهان در بسته‌بندی‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیده و ریشه و بخش هوایی با استفاده از یک تیغ از محل طوقه از هم جدا شدند. در نهایت طول ریشه و ساقه گیاهان در این آزمایش با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ از روش بارس و ویترلی (۱۱) که شامل اندازه‌گیری وزن تر (FW)، وزن آماس (TW) و سپس وزن خشک (DW) و قرار دادن آن‌ها در رابطه زیر است، استفاده گردید. ابتدا سه برگ کاملاً پهن و گسترده را از نمونه‌ها جدا نموده و بلافاصله وزن‌تر اندازه‌گیری شد. سپس این برگ‌ها برای اندازه‌گیری وزن آماس، به مدت ۱۲ ساعت در حالت کاملاً غوطه ور در آب مقطر قرار گرفته و دوباره توزین شدند. در نهایت برای به دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد آون قرار داده شدند. اندازه‌گیری‌ها در هر تکرار و هر تیمار روی سه گیاه انجام و متوسط آنها ثبت گردید.

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

برای بررسی میزان نشت الکترولیت و میزان آسیب به غشاء در اثر تنش خشکی، در پایان آزمایش اقدام به تهیه نمونه‌های برگی از گیاهان مورد بررسی شد. پس از پنج بار شستوی برگ‌ها با آب دو بار تقطیر، ۴ دیسک ۶ میلی‌متر مربعی از برگ‌های تازه تهیه شده و به لوله‌های پروپیلنی دارای ۱۵ میلی لیتر آب دو بار تقطیر انتقال داده شد. لوله‌های دارای نمونه برگی به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با EC متر اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی اولیه). بعد از اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اولیه، نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و با فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو شدند تا تمام محتویات سلول خارج شد. سپس دوباره میزان هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی ثانویه) و درصد نشت‌یونی از رابطه زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} \times 100$$

اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a، b و کل در پایان دوره تنش صورت گرفت. در پایان آزمایش به منظور تعیین میزان کلروفیل برگ، ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی له و به وسیله ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب نوری رو شناورها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) قرائت شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل و کارتنوئید (میلی‌گرم در هر گرم برگ تازه) از معادلات زیر استفاده شد (۲۰).

(۱)

کلروفیل a(mg/g)=(w ×1000/(v۶۴۵)]×A۶۶۳)– ۲/۶۹ (A[۱۲/۷)

(۲)

[] (A۲۲/۹ (A۶۴۵) – ۴/۶۸ ×] (v۶۶۳)/b(mg/g)=w ×1000 کلروفیل

(۳)

کلروفیل کل (mg/g) b کلروفیل+ a کلروفیل

(۴)

کارتنوئید (mg/g) = [۱۹۸/(کلروفیل b) ۸۵/۰۲–(کلروفیل a) ۱/۸–(A۴۷۰) ۱۰۰۰)]

در اینجا A، میزان جذب نوری در طول موج مورد نظر می‌باشد، V حجم عصاره کلروفیل می‌باشد (۱۰ میلی‌لیتر) و w وزن‌تر برگ مورد استفاده (۰/۵ گرم) می‌باشد.

برای استخراج و سنجش پرولین ۰/۵ گرم برگ بالغ را با ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده سپس محلول حاصل را در لوله فالکون ریخته و عمل استخراج دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار گردید. محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی فاز مایع از جامد، قسمت مایع برای استخراج پرولین مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین غلظت پرولین یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی فوق را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده و ۵ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه کرده، سپس این محلول به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خارج کردن نمونه‌ها از حمام آب گرم و خنک کردن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آن‌ها اضافه شد و با همزن مکانیکی مخلوط شدند تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شده، سپس میزان جذب نوری با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. استانداردهای پرولین نیز با استفاده از ال‌پرولین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعداد برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد صفت تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار ($p\leq0/01$) شد (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی

Table 2- ANOVA for (mean of squares) studied morphological traits in some pistachio genotypes under drought stress

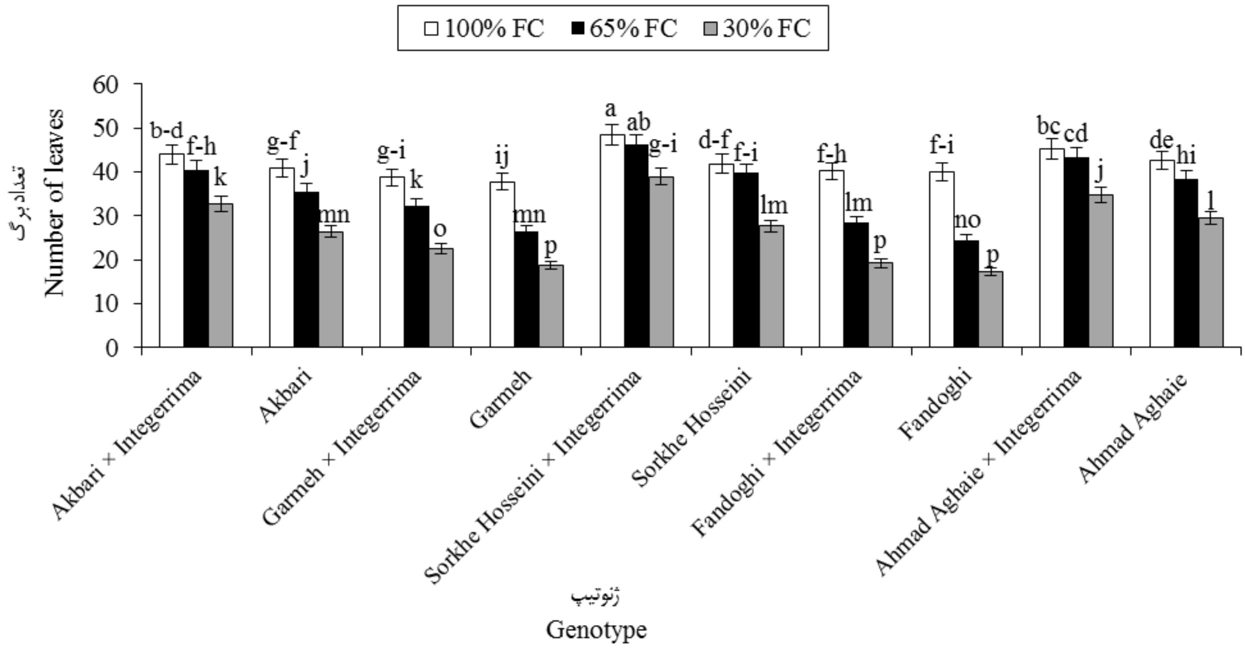
منابع تغیرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد برگ Number of leaves	طول ساقه Stem length	طول ریشه Root length	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
ژنوتیپ Genotype	9	406.25**	762.20**	2966.25**	289.25**	389.29**
خشکی Drought	2	2400.90**	388.12**	11418.71**	941.72**	3861.31**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	10.48**	41.16ns	523.79**	1.13ns	110.05**
خطا Error	30	2.78	26.95	40.07	23.34	7.02
ضریب تغییرات C.V (%)		6.76	6.85	7.78	7.25	6.19

** و * ؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

*, **: Significant at 1% and 5% of probability level and ns no significant, respectively

بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی (شکل ۲) نشان داد که در بین دانهال‌ها، ۸۴ روز پس از شروع تیمارهای تنش، ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریما در تیمار شاهد با میانگین ۴۸/۵۴ عدد برگ، در تنش متوسط با میانگین ۴۶/۲۲ و در تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۸ بیشترین تعداد برگ را در تمامی سطوح تنش نشان داد به طوری‌که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد با میانگین ۱۹/۵۵ درصد کمترین کاهش از لحاظ این صفت را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. برای این صفت در تنش شدید، نسبت به تیمار شاهد ژنوتیپ

فندقی با میانگین ۵۶/۵۶ درصد بیشترین کاهش را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. از نظر تعداد برگ، ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما ، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریما، گرمه، فندقی × اینتگریما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به‌طوری‌که در سطح آخر خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) به ترتیب ۲۳/۴۹، ۲۵/۶۱، ۳۱/۰۴، ۳۳/۹۶، ۳۵/۴۹، ۴۱/۹۵، ۵۰/۳۳، ۵۲/۲۸ درصد کاهش نشان دادند. با توجه به اینکه گونه اینتگریما یک پایه پر رشد است بنابراین می توان رشد بیشتر ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری در ارتباط با این صفت را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی کوهبانی و کریمی (۲۳) روی پسته مطابقت داشت. محققان مذکور گزارش کردند که بذور دورگه بدست آمده از تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه آتلانتیکا نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در ارتباط با صفت تعداد برگ تحمل بیشتری به خشکی دارند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. البته بذور احمد آقایی، سرخه‌حسینی و اکبری که از گرده‌افشانی آزاد بدست آمده بوند نیز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در پایان تنش تحمل بیشتری نشان دادند که این عکس العمل به مقدار زیادی به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد که با نتایج فهیمی خویردی (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که سبب بسته شدن روزنه‌ها در اثر سنتز اسید آبسیزیک و در پی آن کاهش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی می‌شود که به صورت کاهش رشد گیاهان نمایان می‌شود و با تشدید تنش، مرگ گیاه را در پی دارد (۴). وقتی گیاهان در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند به دلیل کاهش پتانسیل آب بافت‌های مریستمی، فشار تورژسانس مورد نیاز برای بزرگ شدن سلول کافی نبوده که این مسئله می‌تواند باعث کاهش انعطاف پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد شده و به کاهش رشد دیواره سلولی و بزرگ نشدن سلول‌ها منجر گردد که در نهایت باعث کاهش تعداد برگ می‌شود (۲۱).



شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر تعداد برگ دانهالی برخی ژنوتیپ پسته

Figure 2- Interaction effect of genotype ×drought on leaf number of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p\leq 0.05$)

طول ساقه

طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، اثر ژنوتیپ و اثر خشکی بر صفت طول ساقه معنی‌دار (p≤۰/۰۱) شد ولی در مورد اثر متقابل ژنوتیپ در خشکی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری (p≥۰/۰۵) مشاهده نشد (جدول ۲). در این بررسی طول ساقه اختلاف معنی‌دار در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد به طوری‌که ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما و فندقی با ۹۱/۰۵ و ۶۵/۴۱ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین این صفت را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

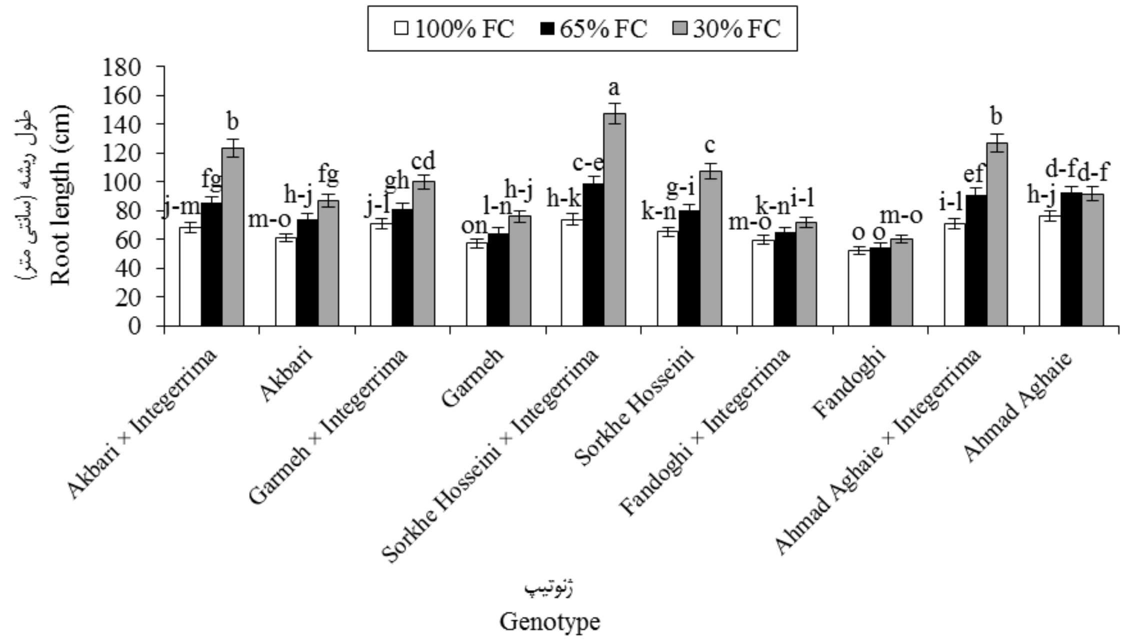
نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر طول ساقه نشان داد که با افزیش سطوح خشکی یک روند کاهشی از نظر این صفت وجود داشت به طوری‌که در آخرین سطح خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) ۱۴/۲۴ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). با توجه به پر رشدی گونه اینتگریما می‌توان طول ساقه بیشتر ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی و کریمی (۲۳) در ارتباط با مقاومت به خشکی ارقام پسته مطابقت دارد. طبق نتایج محققان مذکور رقم دورگه بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا در سطوح مختلف خشکی نسبت به ارقام قزوینی و بادامی ریز زرند ارتفاع ساقه بیشتری نشان داد و به عنوان متحمل‌ترین پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد. رشد سلول یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی است که به کمبود آب حساس است. تقسیم سلولی، بزرگ شدن و تمایزیابی فرآیندهای اصلی هستند که کمیت و کیفیت رشد گیاه را تعیین می‌کنند و تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی مختلف هستند که تنش خشکی یکی از این عوامل است. در شرایط کمبود آب، طویل شدن سلول‌ها به دلیل قطع جریان آب از آوند چوب به سلول‌های در حال طویل شدن متوقف می‌شود در نتیجه تنش خشکی باعث کاهش رشد می‌گردد و بر همین اساس طول ساقه کاهش می‌یابد (۵).

طول ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به طول ریشه (جدول ۲) نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و بر همکنش ژنوتیپ و خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار ($p\leq۰/۰۱$) شد. در تمامی ژنوتیپ‌ها با افزایش سطوح خشکی افزایش طول ریشه در تنش ملایم و شدید مشاهده شد به طوری‌که در بین دانهال‌ها، ژنوتیپ سرخه‌حسینی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما، سرخ‌حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریما، گرمه، احمد آقایی، فندقی × اینتگریما و فندقی در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۴۹/۶۶، ۴۴/۴۵، ۴۳/۹۳، ۳۹/۱۴، ۲۹/۸۵، ۲۸/۸۸، ۲۴/۵۵، ۱۷/۲۱، ۱۶/۷۸، ۱۳/۳۵درصد افزایش نشان دادند. طبق نتایج با افزایش تنش خشکی در تمامی سطوح ژنوتیپ سرخه‌حسینی × اینتگریما و فندقی به ترتیب بیشترین و کمترین افزایش طول ریشه را نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. بنابراین ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریما نسبت به سایر دانهال‌های تحت تنش متحمل‌ترین ژنوتیپ در برابر خشکی از نظر طول ریشه می‌باشد (شکل ۳). نتایج این پژوهش با نتایج آزمایشات قاسمی (۱۴) روی پسته مطابقت نداشت. محققان مذکور گزارش کردند با افزایش تنش خشکی طول ریشه در تمامی دانهال‌ها کاهش یافت و ژنوتیپ های حساس کاهش بیشتری در ارتباط با این صفت نشان دادند. از طرفی نتایج پژوهش حاضر با یافته های حسنی گرده گوهی (۱۶) روی پسته مطابقت دارد. طبق نتایج این محققان هر چه طول دوره خشکی طولانی‌تر باشد طول ریشه گیاه به منظور جذب آب از لایه-های عمیق تر خاک، افزایش می‌یابد. گیاهان متحمل به خشکی جهت استفاده بهینه از آب موجود در خاک خشک طول ریشه خود را به میزان بیشتری افزایش می‌دهند و این افزایش ریشه همراه با کاهش قطر ریشه می‌باشد. تنش خشکی سبب فعال شدن ژن‌های تولید کننده پروتئین اکسپانزین در ریشه می‌شود که این پروتئین با سست کردن پیوندهای دیگلوکان بین رشته‌های سلولزی در دیواره سلولی، جذب آب را بیشتر کرده که با افزایش تورژسانس سلولی طول ریشه را افزایش می‌دهد (۳۷).

محتوای نسبی آب برگ

در این پژوهش، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر محتوی نسبی آب برگ ($p\leq۰/۰۱$) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی روی این صفت معنی‌دار ($p\leq۰/۰۵$) نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها، دورگه احمد آقایی × اینتگریما با ۷۱/۳۳ درصد و فندقی با ۵۵/۴۷ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین محتوی رطوبت نسبی را دارا بودند. البته بین ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریما و سرخه حسینی × اینتگریما از لحاظ این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین سطوح مختلف خشکی نشان داد، تیمار شاهد نسبت به سایر سطوح بیشترین محتوای نسبی آب را دارد و اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح نشان داد. در بین دو سطح خشکی بعد از تیمار شاهد بیشترین مقدار از لحاظ این صفت با میانگین ۶۶/۲۰ درصد متعلق به تیمار تنش ملایم و کمترین میزان این صفت با میانگین ۵۵/۹۸ درصد به تیمار تنش شدید اختصاص داشت (جدول ۵). شایان ذکر است که یکی از ساز و کارهای تحمل به تنش خشکی در دانهال‌های پسته کارایی بالاتر برای جذب آب از محیط ریشه است. ژنوتیپ‌هایی که بتوانند در شرایط تنش خشکی محتوی نسبی آب برگ بیشتری را ذخیره کنند از مقاومت بیشتری در مقابل از دست دادن آب برخوردار خواهند بود (۳۰). بنابراین شاخص محتوی نسبی آب برگ شاخص فیزیولوژیکی مهمی در بررسی و ارزیابی درجه مقاومت به تنش خشکی و غربال‌گری ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی است (۱۸).



شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر طول ریشه دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 3- Interaction effect of genotype ×drought on root length of some pistachio genotype seedlings (LSD, *p≤0.05*)

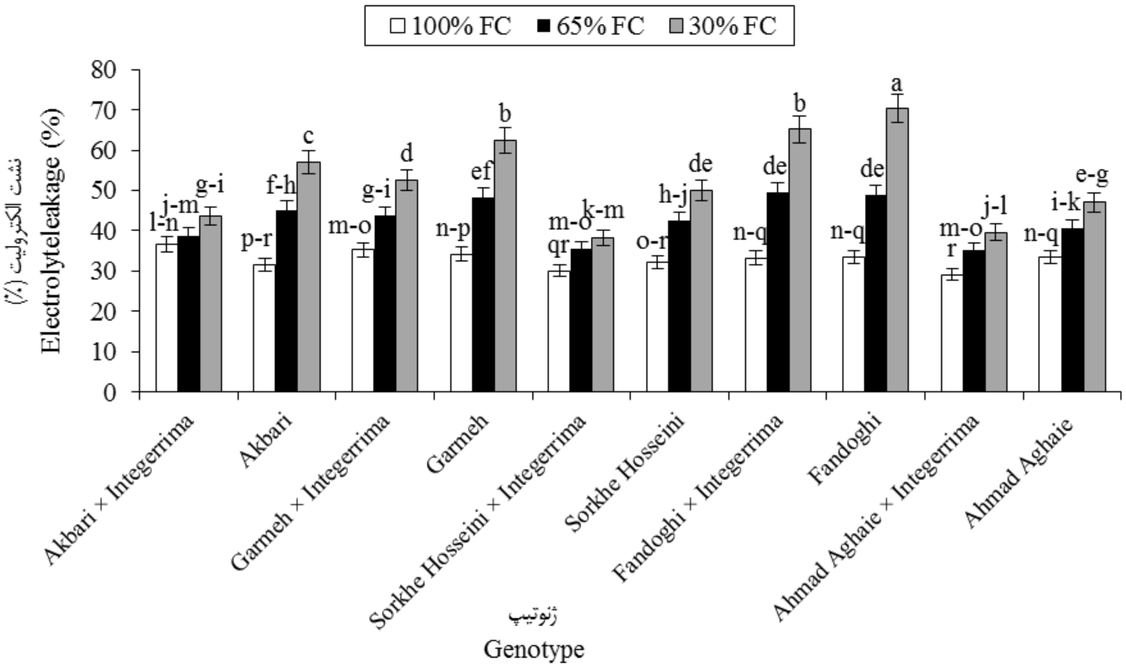
نشت‌الکترولیت

اثـرات سـاده و متقابـل عوامـل آزمایشـی از نظـر میـزان نشـت الکترولیت اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد (p≤۰/۰۱) نشان داد (جدول ۲). نتـایج حاصـل از مقایسـه میـانگین اثـر متقابـل ژنوتیپ و خشکی نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان نشـت الکترولیت در همه ژنوتیپ‌هـا افـزایش یافـت (شـکل ۴). بیشـترین و کمترین میزان این صفت به ترتیب مربوط به بالاترین سطح خشکی و شاهد در هر ۱۰ ژنوتیپ بود به طوری‌که در بین دانهال‌ها، ژنوتیپ پـر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریما و فندقی بـا میـانگین ۲۱/۱۳ و ۵۲/۲۹ درصد به ترتیـب از کمتـرین و بیشـترین میـزان نشـت‌الکترولیـت در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد برخوردار بودند. در ارتباط با ایـن صفت ژنوتیپ‌های دورگه اکبری × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما، احمد آقایی، گرمه × اینتگریما، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمـه و دورگـه فندقی × اینتگریما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتنـد بـه طـوری‌کـه در سطح آخر خشکی نسبت به شاهد به ترتیـب ۱۶/۱۲، ۲۶/۲۵، ۲۸/۷۵، ۳۲/۷۷، ۳۵/۷۱، ۴۴/۷۲، ۴۵/۱۲، ۴۸/۹۵ درصد افزایش مشاهده شـد. نتایج تحقیقات متعددی نشان داده است که با افزایش میزان خشـکی، میزان نشت‌الکترولیت در پسته افزایش می‌یابد. در شرایط وجود تـنش های مختلف و به ویژه خشکی، پایداری غشای سلولی از بین رفتـه و در شرایطی که برگ در یک محیط آبی قرار بگیـرد، مـواد محلـول از سلول های آن تراوش می‌کند، لذا پایداری غشـاء بـه وسـیله ارزیـابی تراوش یون‌ها از آن مشخص می‌گردد (۹). بنابراین نشت الکترولیتـی کم، یک شاخص از ثبات غشای سلول و تحمل به تنش خشکی می-باشد (۲۸).

رنگیزه‌های گیاهی

کلروفیل a، b و کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط بـه کلروفیـل a و کل نشان داد که این صفات فقط تحت تأثیر ژنوتیپ و خشـکی واقـع شدند (p≤۰/۰۱) ولی داده‌های مربوط بـه کلروفیـل b نشـان داد کـه علاوه بر اثرات ساده ژنوتیپ و خشکی، بر همکنش ژنوتیپ و خشکی نیز بر روی این صفت در سطح یک درصـد معنـی‌دار شـد (p≤۰/۰۱) (جدول ۳).



شکل ٤- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر نشت الکترولیت دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 4- Interaction effect of genotype ×drought on electrolyte leakage of some pistachio genotype seedlings (LSD, *p≤0.05*)

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات بیوشیمایی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته تحت شرایط تنش خشکی

Table 3- ANOVA (mean of squares) for studied biochemical traits in some pistachio genotypes under drought stress

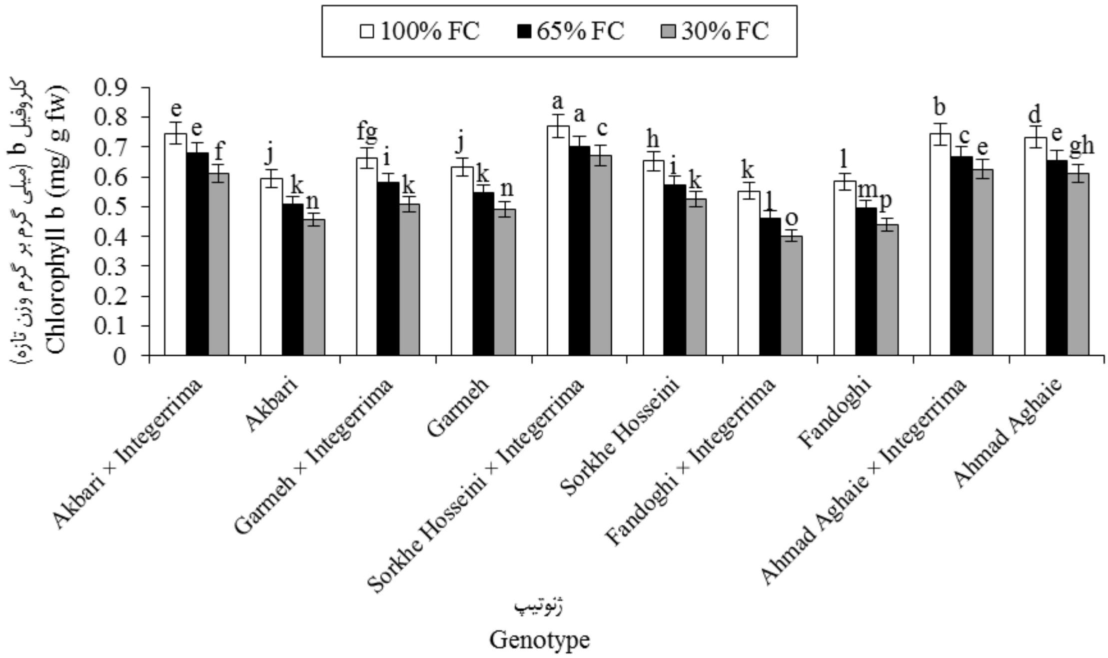
منابع تغیرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	پرولین برگ Leaf Proline	پرولین ریشه Root Proline
ژنوتیپ Genotype	9	0.084**	0.130**	0.419**	0.1194**	48845.09**	64779.70**
خشکی Drought	2	0. 178**	0.075**	0.470**	0.1933**	2703625.22**	967875.68**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	0.0003ns	0.0005**	0.0013ns	0.00097ns	15163.56**	19868.45**
خطا Error	30	0.001	0.00005	0.0046	0.0017	672.21	392.78
ضریب تغییرات C.V (%)		6.09	3.07	8.15	5.52	7.31	9.91

** و * ؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

* ,**: Significant at 1% and 5% of probability level and ns no significant, respectively

مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میـزان کلروفیـل a نشان داد که بیشترین میزان این صفت در دورگه اکبری × اینتگریما و کمترین میزان آن در دورگه فندقی × اینتگریما مشاهده شـد (جـدول ۴). نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر کلروفیل a نشان داد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهشـی از نظـر ایـن صـفت وجـود داشـت به طوری‌که در آخرین سطح خشکی نسبت بـه شـاهد ۱۹/۹۲ درصـد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). در ارتباط با صفت کلروفیـل b (شـکل ۵) با افزایش تنش خشکی از میزان این صـفت در تمـامی دانهـال‌هـا کاسته شد. در تمامی سطوح خشکی ژنوتیپ دورگه سـرخه‌حسـینی × اینتگریما نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها میزان کلروفیـل b بیشـتری نشـان داد و از لحاظ آماری این اختلاف معنـی‌دار بـود. بـا افـزایش سـطوح خشکی و در تنش شدید از میزان کلروفیل b در همه دانهال‌ها کاسـته شد ولی دورگه سرخه‌حسـینی × اینتگریمـا بـا کـاهش ۱۲/۹۲ درصـد نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌هـا در ایـن سـطح از تـنش

میزان کلروفیل b بیشتری نشان داد و از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت. بیشترین میزان کاهش این صفت در بین دانهال‌ها در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریما با کاهش ۲۷/۱۴ درصد مشاهده شد. در ارتباط با این صفت ژنوتیپ‌های احمد آقایی × اینتگریما، احمد آقایی، اکبری × اینتگریما، سرخه‌حسینی، گرمه، اکبری، گرمه × اینتگریما و فندقی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به‌طوری‌که در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۱۵/۷۷، ۱۶/۷۰، ۱۸/۰۲، ۱۹/۵۹، ۲۲/۴۵، ۲۳/۰۴، ۲۳/۱۸، ۲۴/۹۳ درصد کاهش نشان دادند.



شکل ۵- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان کلروفیل b دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 5- Interaction effect of genotype ×drought on Chlorophyll b content of some pistachio genotypeseedlings. (LSD, *p≤0.05*)

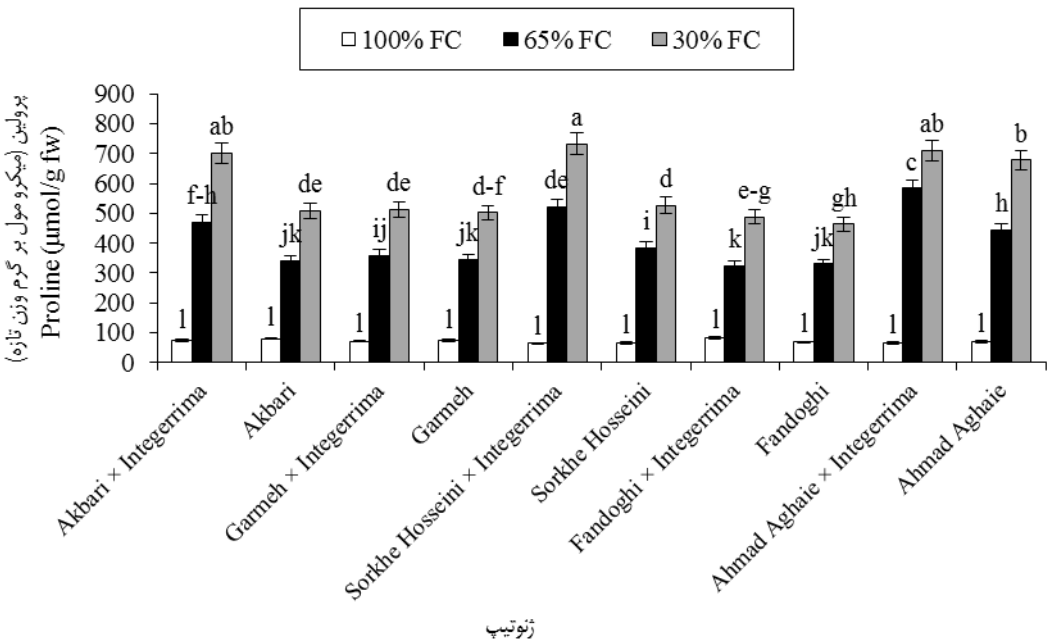
مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میزان کلروفیل کل روندی تقریبا مشابه کلروفیل a نشان داد به طوری‌که بیشترین میزان این صفت در ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما و کمترین میزان آن در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریما مشاهده شد (جدول ۴). همچنین با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهشی از نظر این صفت وجود داشت به طوری‌که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد ۲۲/۹۶ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). طبق نتایج بیشترین میزان کلروفیل برگ متعلق به ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما و کمترین میزان این صفت مربوط به ژنوتیپ‌های فندقی و دورگه فندقی × اینتگریما بود. بر اساس برخی مشاهدات ظاهری در زمان تنش خشکی در پژوهش حاضر، شدت رنگ سبزینه‌ای در ژنوتیپ‌های حساس به تنش به میزان بیشتری کاهش نشان داد. کاهش در میزان سبزینه برگ در شرایط تنش خشکی می‌تواند منجر به کاهش کارآیی فتوسنتزی گیاهان گردد و گیاهانی که بتوانند سبزینه خود را در حد بالایی حفظ کنند از فتوسنتز بالاتری برخوردار خواهند بود (۳۲). بنابراین تنش خشکی باعث کاهش میزان سبزینه برگ به دلیل شکسته شدن کلروپلاست‌ها، پیری زودرس گیاهان و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین تشکیل پروتوکلروفیل در شرایط تنش متوقف می‌شود (۳۲). طبق نتایج ما در شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما تجزیه کلروفیل کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند و از تحمل بیشتری در شرایط تنش برخوردار بودند. نتایج پژوهش حاضر با نتایج قاسمی و همکاران (۱۴) و فهیمی خویردی و همکاران (۱۳) روی پسته مبنی بر کاهش بیشتر میزان کلروفیل (a، b و کل) در ژنوتیپ های حساس در شرایط تنش خشکی همخوانی داشت.

کارتنوئید

طبق جدول تجزیه واریانس، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر میزان کارتنوئید (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر روی این صفت اثر معنی‌داری (P≥۰/۰۵) نشان نداد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده (جدول ۴) نشان داد که میزان کارتنوئید در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۰/۹۳۶ الی ۰/۶۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریما و فندقی متغیر بوده است. در ضمن ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، فندقی × اینتگریما، گرمه × اینتگریما، اکبری و گرمه در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳). در مقایسه بین سطوح مختلف خشکی از لحاظ این صفت، تیمار شاهد با میانگین ۰/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین میانگین کارتنوئید را به خود اختصاص داد. میزان کارتنوئید در سطوح خشکی ملایم و شدید به ترتیب به میزان ۶/۹۸ و ۱۶/۶۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول ۵). کارتنوئیدها نقش بسیار مهمی در حفاظت نوری گیاهان در مقابل تنش خشکی دارند. کارتنوئیدها گروهی از مولکول‌های بزرگ ایزوپرونئیدی هستند که رنگیزه‌های جمع کننده انرژی نورانی می‌باشند و به هیدروکربن‌های کارتن مانند لیکوپن و گزانتوفیل‌ها تقسیم می‌شوند. کارتنوئیدها از عوامل اصلی اتلاف انرژی اضافی از طریق گرما هستند و نقش محافظت کننده دارند (۱۹). در واقع کارتنوئیدها به عنوان رنگدانه‌های کمکی عمل می‌نمایند و به عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در حفاظت از فرآیندهای فیتوشیمایی و پایداری آنها نقش دارند. بنابراین بالاتر بودن کارتنوئیدها در یک ژنوتیپ امکان مقاومت به شرایط تنش را فراهم می‌کند (۱).

پرولین

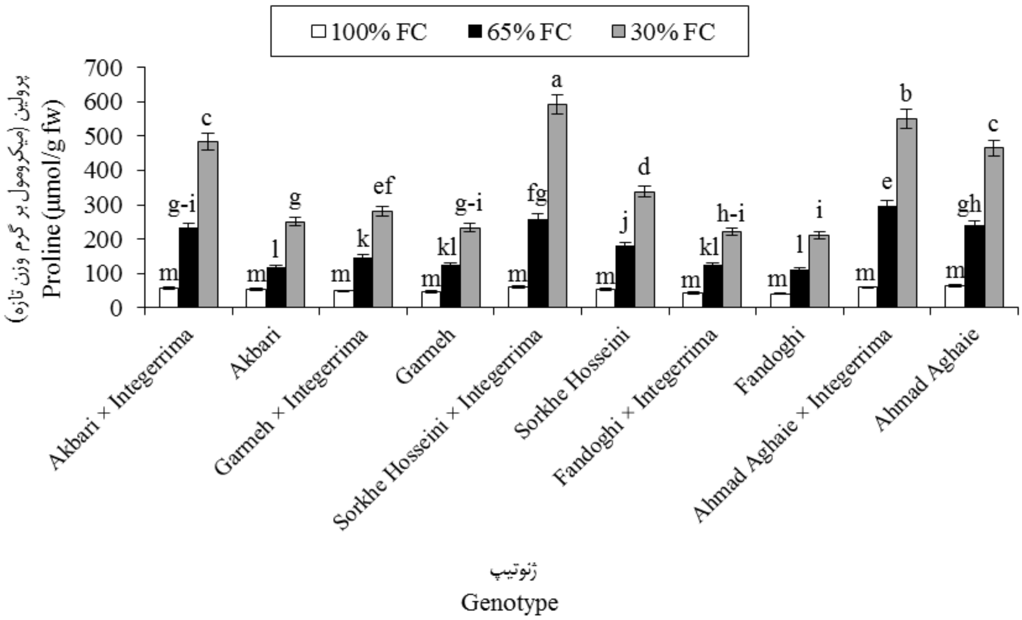
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ، خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر میزان تجمع پرولین برگ و ریشه معنی‌دار بود (P≤۰/۰۱) (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین همگام با افزایش شدت خشکی میزان تجمع پرولین در برگ‌ها نسبت به شاهد افزایش داشت و اختلافات بسیار معنی‌دار بود. از نظر میزان پرولین، گیاهانی که در تیمار شاهد قرار گرفتند، با میانگین ۷۱/۳۷ میکرومول در گرم وزن تر، کمترین مقدار پرولین را داشتند، در حالی‌که گیاهان در تیمار تنش ملایم و شدید به ترتیب با میانگین ۴۱۰/۱۹ و ۵۸۵/۳۶ میکرومول در گرم وزن تر مقدار پرولین بیشتری را نشان دادند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به ترتیب ژنوتیپ‌های دورگه سرخه حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما میزان تجمع پرولین بیشتری در برگ داشتند و اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها و باهم نشان دادند (شکل ۶).



شکل ٦- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین برگ دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 6- Interaction effect of genotype ×drought on leaf proline content of some pistachio genotypeseedlings. (LSD, *p≤0.05*)

پرولین ریشه گیاهان نیز مانند پرولین برگ تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و در ارتباط با این صفت نیز ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها مقادیر بالاتری را با افزایش سطوح خشکی نشان دادند (شکل ۷). البته میزان افزایش پرولین برگ نسبت به ریشه بیشتر بود که با نتایج فهیمی خویردی و همکاران (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. محمد خانی و حیدری (۲۵) دلیل کمتر بودن میزان پرولین ریشه را انتقال آن به قسمت‌های هوایی برگ به منظور تعدیل پتانسیل اسمزی و جلوگیری از هدررفت آب تحت شرایط خشکی گزارش کردند. محقق مذکور گزارش کرد تجمع بیشتر پرولین برگ تحت شرایط خشکی احتمالا به دلیل بیوسنتز پرولین در کلروپلاست می‌باشد. البته نتایج آزمایش ما با نتایج آزمایش قاسمی (۱۴) و روزبان (۳۱) روی پسته مطابقت نداشت. طبق نتایج محققان مذکور پرولین نمی‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های پسته باشد چرا که برخی ژنوتیپ‌ها که به عنوان ژنوتیپ حساس ارزیابی شدند تجمع پرولین بیشتری با افزایش تنش خشکی نشان دادند. البته بر اساس نتایج این پژوهش و بر مبنای مطالعات قبلی پرولین می‌تواند به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی در سطوح مختلف خشکی در پسته در نظر گرفته شود (۱۳ و ۱۵). در حقیقت این طور می‌توان بیان کرد که افزایش پرولین تحت تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی با میزان تحمل آنها به تنش همبستگی دارد و به طور کلی محتوی پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس می‌باشد (۸). در پژوهشی عباس پور و همکاران (۲) گزارش کردند که تنش خشکی منجر به افزایش بیشتر غلظت پرولین برگ و ریشه در دانهال‌های پسته رقم اکبری نسبت به سایر دانهال‌ها گردید و باعث افزایش مقاومت به تنش شد. بر اساس یافته‌های ارانجیلو و همکاران (۶) گیاهانی که در شرایط خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند در شرایط تنش فشار تورژسانس سلول‌های خود را حفظ نمایند. بنابراین ژنوتیپ‌های با مقدار بیشتر پرولین می‌توانند به شرایط خشکی متحمل‌تر باشند.



شکل ۷- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین ریشه دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 7- Interaction effect of genotype ×drought on root proline content of some pistachio genotypeseedlings. (LSD, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

بر اساس پژوهش فوق تمامی پارامترهای مورد اندازه‌گیری تحت تأثیر تیمار خشکی واقع شدند و سطوح مختلف خشکی آثار معنی‌داری بر تمامی صفات داشت به طوری‌که با افزایش تنش خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین کاهش یافتند. در بین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به این ۱۰ ژنوتیپ، ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما بواسطه مقادیر بالای در اکثر صفات به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و ژنوتیپ‌های دورگه فندقی × اینتگریما و فندقی به دلیل مقادیر پایین در اکثر صفات به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها ارزیابی شدند. همچنین طول ریشه بیشتر در تمامی سطوح خشکی

اعمال شده در ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دهنده کارایی بهتر این ژنوتیپ‌ها در جذب آب و مواد غذایی می‌باشد. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی، به نظر می‌رسد بتوان از ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما به عنوان ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح در مناطق خشک استفاده کرد و لازم است در آینده پیوند ارقام مختلف روی این ژنوتیپ‌ها انجام و مقاومت پایه‌های پیوندی و رفتار پیوندک نسبت به سطوح مختلف خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد.

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی

Table 4- Mean comparison of sometraits measured in pistachio genotypes under drought stress

ژنوتیپ Genotype	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتنوئید Carotenoids (mg/g fw)
احمد آقایی Ahmad Aghaie	76.04[bc]	70.33[ab]	0.665[b]	0.985[c]	0.810[c]
احمد آقایی × اینتگریما Ahmad Aghaei × Integerrima	76.95[b]	71.33[a]	0.678[b]	1.04[b]	0.936[a]
فندقی Fandoghi	65.41[f]	55.47[e]	0.505[d]	0.612[f]	0.624[f]
فندقی × اینتگریما Fandoghi × Integerrima	73.86[b-d]	67.50[a-c]	0.472[e]	0.603[f]	0.735[d]
سرخه حسینی Sorkhe Hosseini	87.59[a]	68.81[ab]	0.583[c]	0.809[d]	0.745[d]
سرخه حسینی × اینتگریما Sorkhe Hosseini × Integerrima	91.05[a]	71.03[a]	0.679[b]	1.12[a]	0.879[b]
گرمه Garmeh	69.18[ef]	66.62[bc]	0.555[c]	0.715[e]	0.661[e]
گرمه × اینتگریما Garmeh × Integerrima	70.69[de]	69.14[ab]	0.583[c]	0.819[d]	0.729[d]
اکبری Akbari	72.07[c-e]	63.90[cd]	0.520[d]	0.683[e]	0.685[e]
اکبری × اینتگریما Akbari × Integerrima	73.99[b-d]	68.91[ab]	0.714[a]	0.988[c]	0.840[c]

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف خشکی بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته

Table 5 –Effect of different levels of drought on traits studied in pistachio genotypes

سطوح خشکی Drought levels	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتنوئید Carotenoids (mg/g fw)
شاهد (ظرفیت زراعی) Control (Field capacity)	80.67[a]	71.65[a]	0.666[a]	0.945[a]	0.830[a]
تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) Moderate stress (65% of field capacity)	77.19[b]	66.20[b]	0.587[b]	0.842[b]	0.772[b]
تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) Severe stress (30% of field capacity)	69.18[c]	55.98[c]	0.533[c]	0.728[c]	0.692[c]

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

منابع

1- Abbasi A., Sarvestani R., Mohammadi B., and Baghery A. 2014. Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes, Journal of Agricultural Science and Technology 16: 505-516.

2- Abbaspour H., Saeidi-Sar S., Afshari H., and Abdol-Wahhab M. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions, Journal of Plant Physiology 169: 704-709.

3- Ali A., Ali Z., Quraishi U.M., Kazi A.G., Malik R.N., Sher H., and Mujeeb-Kazi A. 2014. Integrating physiological and genetic approaches for improving drought tolerance in crops, Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance 2: 315-345.

4- Amrijit K.N., Kumari S., and Sharma D.R. 2005. In vitro selection and characterization of water stress tolerance culture of bell pepper. Journal of Plant Physiology 10: 14-19.j13

5- Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L., Saleem M.F., Man C., and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.

6- Aranjuelo I., Molero G., Erice G., Christophe Avice J., and Nogues S. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.), Journal of Experimental Botany 62: 111-123.

7- Araus J.L., Casadesus J., Bort J., Nachit M.M., Villegas D., Aparicio N., and Royo C. 2015. Some remarks on ecophysiological traits for breeding, Journal of Ciheam-Options Mediterranneenes 40: 57-62.

8- Ashraf M., and Foolad M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, Journal of Environmental and Experimental Botany 59: 206–216.

9- Atarodi H., Irannejad H., Shirani A., Amiri R., and Akbari Gh. 2012. Effects of drought stress and planting date on native plant, on the electrical conductivity of the resulting seeds. Iranian Journal of Agricultural Research 9(2): 242- 247. (In Persian)

10- Baghari V. 2010. Effects of arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) fungi on drought tolerance of pistachio seedlings. M. Sc. Thesis, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Vali-e-Asr, Rafsanjan. (In Persian)

11- Barrs H.D., and Weaterley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity techniques for the estimating water deficit in leaves, Australian Journal of Biological Sciences 15: 413-428.

12- Ben Hamed S., Lefi E., and Chaieb M. 2016. Physiological responses of *Pistacia vera* L. versus *Pistacia atlantica* Desf. To water stress conditions under arid bioclimate in Tunisia, Journal of Scientia Horticulturae 203: 224- 230.

13- Fahimi Khoyerdi F., Shamshiri M.H., and Estaji A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress, Journal of Scientia Horticulturae 198: 44-51.

14- Ghasemi M., Arzani K., Yadollahi A., and Hokmabadi H. 2013. Drought stress and carbon isotope discrimination in some pistachio seedlings. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University. Tehran.

15- Gholipour Y., and Zamani Z. 2001. Amino acid proline fluctuations in some drought-stressed pistachio rootstocks. FAO-CIHEAM, NUCIS Newsletter 10: 31-33.

16- Gijon M. C., Gimenez C., Perez-Lopez D., Guerrero J., Couceiro J. F., and Moriana A. 2010. Rootstock influences the response of pistachio (*Pistacia vera*. cv Kerman) to water stress and rehydrations, Journal of Scientia Horticulturae 125(4): 666-671.

17- Hasaani Gardekuhi M.R. 2011. Evaluation of the combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseaae*) and Salicylic Acid on drought resistance of pistachio seedlings of Abarqi cultivar. MSc. Thesis, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Rafsanjan. (In Persian)

18- Hasheminasab H., Aliakbari A., and Baniasadi R. 2014. Optimizing the relative water protection (RWP) as novel approach for monitoring drought tolerance in Iranian pistachio cultivars using graphical analysis, International Journal of Biosciences 4: 194-203.

19- Jahns P., and Holzwarth A.R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in Photoprotection of photosystem II. Journal of Biochimica et Biophysica Acta 1817: 182-193.

20- Kizhedath A., and Suneetha V. 2011. Estimation of chlorophyll content in common household medicinal medicinal leaves and their utilization to avail health benefits of chlorophyll, Journal of Pharmacy Research 4(5): 1412-1413.

21- Kuchaki A., and Srmdnya G.h. 2005. Journal of Crop Physiology. Jahad University Publications, Ferdowsi University of Mashhad. Iran.

22- Lutts S., Kinet J.M., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Journal of Annals of Botany 78(3): 389- 398.

23- Maleki kuhbani A., and Karimi H.M. 2013. Evaluation of pistachio and hybrids rootstocks (*P.vera* × *P. atlantica*) to drought stress. Iranian Journal of Horticultural Science 44 (1): 81-93. (In Persian)

24- Modarres R., and de Paulo Rodrigues da Silva V. 2007. Rainfall trends in arid and semi-arid regions of Iran, Journal of Arid Environments 70: 344-355.

25- Mohammadkhani N., and Heidari R. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. World Appl. Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran. (In Persian)

26- Moriana A., Memmib H, Centeno A., Martin-Palomo M. J., Corell M., Torrecillas A., and Perez-Lopezc D. 2018. Influence of root stock on pistachio (*Pistachio vera* L cv Kerman) water relations, Journal of Agricultural Water Management 1-194.

27- Office of Statistics and Information Technology. 2008. Agricultural Statistics. Assistance of Planning and Economic of Ministry of Agriculture Jahad, Tehran Iran.

28- Ortiz N., Armada E., Duque E., Roldan A., and Azcon R. 2015. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains, Journal of Plant Physiology 174: 87-96.

29- Paquin R., and Lechasseur P. 1979. Observationssur une methode de dosage dela praline libre dans les extraits de plantes. Canadian Journal of Botany 57: 1851-1854.

30- Rai K., Kalia R.K., Singh R., Gangola P., and Dhawan A. 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection an overview of the recent progress, Journal of Environmental and Experimental Botany 71: 89-98.

31- Rozban M.R. 2009. Investigation of physiological mechanisms of drought tolerance in three of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings .Ph.D. Thesis, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. (In Persian)

32- Salisbury F. B., and Ross C. W. 1992. Journal of Plant Physiology, Belmont, Wadsworth, USA. 682 pp.

33- Sedaghati N., sheybani Tadriji Z., Tahabadipur A., Hokmabadi H., Haghdel M., and Abdollahi M. 2009. Pistachio Production Guide, Third edition, Sarv Publications in collaboration with Research, Agricultural education and natural resources. Tehran. 563 p.

34- Shibairo S. I., Upadhyaya M. K., and Toivonen P. M. A. 1998. Influence of preharvest water stress on postharvest moisture loss of carrot (*Daucus carota* L.), Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73: 347- 352.

35- Taiz L., and Zeiger E. 2002. Sinauer associates, Inc. Journal of Plant Physiology 690p.

36- Uddin G., Rauf A., Rehman T., and Qaisar M. 2011. “Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. *integerrima*”, Middle-East Journal of Scientific Research 5: 707-711.

37- Xing H.L., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., and Zhang C. 2004. Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss, Journal of Plant Growth Regulation 42: 61-68.

38- Zeinoddini A., Amirpure M., and Farazmand, M. 2007. Evaluation of irrigation quality on soils mutation and pistachio yield in Anar zone. 10th Congeress of Iranian Soil Science, Karaj, 355-356. (In Persian)

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 303-319
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۳۱۹-۳۰۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Evaluation of some Vegetative and Physiological Traits of Domestic Pistachio Seedlings in Controlled Crosses with Integerrima Pollen Grains in Order to Access Drought Tolerant Genotypes

H. Farhadi[1]- M. Sharifani[2]*- M. Alizadeh[3]- H. Hokmabadi[4]- S. Aliniaeifard[5]

Received: 15-04-2020
Accepted: 27-05-2020

Introduction: Agriculture of Iran is known worldwide for its pistachio (*Pistacia vera* L.) and is one of the most important non-oil exports. Therefore, attempts to improve the yield can be one of the primary goals in the pistachio industry in Iran. Due to the drought problem in Iran, increasing the cultivation area to increase production may not be a good option. Therefore, the purpose of this study was to compare the drought tolerance of different pistachio seedlings from open pollination and pollinated with domestic species pollen and controlled crosses using integerrima pollen in order to find the most tolerant genotypes.

Materials and Methods:

The first step: Controlled pollination and hybrid seed production In order to produce hybrid seeds, a controlled pollination using integerrima pollen grains at Razavi Pistachio Research Institute was conducted for five cultivars; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh and Fandoghi. Each replication had a tree and from each tree, seven branches were selected that had at least three to four flower buds and four branches from it for controlled pollination, two branches for open pollination and a branch was considered for negative control. Before the flower clusters were fully opened, 70% alcohol was sprayed on the branches to prevent the possibility of unwanted pollen. In order to ensure controlled pollination, in the bud swelling stage, the branches were isolated by double-layered bags measuring 30 × 45 cm. Pollen was collected from the Arzooieh area of Kerman province to select the male parent of integerrima. Then, a combination of flour and integerrima pollen (1:1 ratio) was injected into the insulating bags and pollination was performed. In late summer, hybrid seeds were harvested.

The second stage: Drought resistance test of hybrids obtained from first step The experiment was conducted as factorial based on a Completely Randomized Design with four replications at the research greenhouse located in Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources during 2019-2020. The treatments were consisted of ten pistachio genotypes; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh, Fandoghi and (hybrids between integerrima as the pollinizer and genotypes of Ahmad Aghaie, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh and Fandoghi were applied as the maternal parent and three levels of drought including control (field capacity), mild stress (65% of field capacity) and severe stress (30% of field capacity) were applied on 3 months old seedlings for 84 days. Seeds obtained from free and controlled pollination were planted in pots with a diameter of 33 cm and a height of 35 cm on April 6, 2017. Three seeds were planted in each experimental unit, and after planting and ensuring establishment, the number of plants in the pot was reduced to the final level of one in each pot. Each replication was consisted of four experimental units or four pots, and each pot was contained a plant. At the end of the experiment, growth and physiological parameters were measured. Statistical analysis of the results was performed using SAS 9.1 software.

Results and Discussion: Results of statistical analysis showed drought stress had a significant effect on leaf number, stem length, root length, leaf relative water content, electrolyte leakage, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, and leaf and root proline content. With increasing drought levels, all traits except root length, electrolyte leakage and proline content were reduced in comparison with control. Sorkheh Hosseini × integerrima, Ahmad Aghaei × integerrima, Akbari × integerrima interactions and genotypes of fandoghi and

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Assistant Professors, Department of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mmsharif2@gmail.com)
4- Assistant Professor, Pistachio Research center, Agricultural Research Education and Extention Organization of Semnan Province, Dameghan Center, Iran
5- Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran

fandoghi × integerrima interaction were superior in the most of traits by drought, respectively. Based on the results it seems hybrids of Sorkhe Hosseini × integerrima, Ahmad Aghaei × integerrima and Akbari× integerrima crosses will be used as genotypes with dry-tolerant genes to modify cultivars in arid regions.

Keywords: Drought stress, Electrolyte leakage, Leaf relative water content, Proline